

KARINA MIDORI SATO

**COMPARAÇÃO DE NEURORRAFIAS TÉRMINO-
TERMINAIS E TÉRMINO-LATERAIS NA
RECONSTRUÇÃO DO NERVO MEDIANO:
pesquisa experimental em ratos *Wistar* adultos**

Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, para a conclusão
do Curso de Graduação em Medicina.

**Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina
2005**

KARINA MIDORI SATO

**COMPARAÇÃO DE NEURORRAFIAS TÉRMINO-
TERMINAIS E TÉRMINO-LATERAIS NA
RECONSTRUÇÃO DO NERVO MEDIANO:
pesquisa experimental em ratos *Wistar* adultos**

Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, para a conclusão
do Curso de Graduação em Medicina.

Presidente do Colegiado: Prof. Dr. Ernani Lange de S. Thiago
Orientador: Prof. Dr. Zulmar Antônio Accioli de Vasconcellos

Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina
2005

Sato, Karina Midori.

Comparação de neurorrafias término-terminais e término-laterais na reconstrução do nervo mediano: pesquisa experimental em ratos *Wistar* adultos / Karina Midori Sato. - Florianópolis, 2005.

40p.

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal de Santa Catarina – Curso de Graduação em Medicina

1. Rato Wistar 2. Nervo Mediano 3. Plexo Braquial 4. Regeneração nervosa 5. Cola de Fibrina I. Accioli de Vasconcellos, Zulmar Antônio. II. Schültz, Luciano Vargas. III. Comparação de neurorrafias término-terminais e término-laterais na reconstrução do nervo mediano: pesquisa experimental em ratos *Wistar* adultos.

Este trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Medicina é dedicado a Tamiko Yano, minha mãe, a Maurício Hideyuki Ijichi, meu namorado, e a Lucila Tieko Yano de Andrade, minha madrinha, que mesmo distantes, sempre me incentivaram a lutar para conquistar meus objetivos e me apoiaram nos momentos mais difíceis, para que meu sonho tornasse realidade.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Zulmar Antônio Accioli de Vasconcellos, Cirurgião Plástico, Microcirurgião e Prof. da disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental (T.O.C.E.), pelo empréstimo de materiais e instrumentos de microcirurgia, pelas orientações, críticas construtivas e, principalmente, pelo incentivo à pesquisa, sem impor limites.

Ao Dr. Luciano Vargas Schültz, Cirurgião Plástico, pela confiança em me deixar participar do experimento e pela aquisição de materiais para a pesquisa.

Ao Dr. Geraldo Bernardes, Médico Veterinário, pelo protocolo de anestesia, analgesia e eutanásia para os animais deste trabalho.

A Charles Veiga, a Jaimar Gonçalves da Silva, a Carlos Alberto Joaquim, a Maico Buss e, principalmente, a Luís Henrique Prazeres, Funcionários da T.O.C.E., pelo auxílio nos procedimentos de anestesia, analgesia e eutanásia.

Ao Dr. Marcelo B. Teive, Cirurgião Geral, pelo empréstimo do aparelho para identificação dos animais.

Ao Dr. Paulo Roberto Kechele, Ortopedista, pelo fornecimento de vários artigos científicos.

Aos Bibliotecários pelo auxílio na busca de artigos científicos.

Ao Prof. Dr. Newton Macuco Capella, Cirurgião de Cabeça e Pescoço e Prof. responsável pela T.O.C.E., pela autorização para o uso das instalações do laboratório para a realização da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Armando José d'Acampora, Cirurgião Proctologista e Prof. da disciplina de T.O.C.E., pelas reuniões científicas ministradas aos alunos, o qual me despertou o espírito científico e o interesse em realizar um trabalho em cirurgia experimental.

A Rodrigo Massayuki Ijichi, irmão de meu namorado, por ter me presenteado o computador, um aparelho indispensável a qualquer universitário.

Ao Dr. Rodrigo d'Eça Neves, Cirurgião Plástico, Chefe do Núcleo de Cirurgia Plástica do Hospital Universitário de Florianópolis e ao Dr. Jorge Bins Ely, Cirurgião Plástico e Prof. da disciplina de T.O.C.E. pela avaliação do trabalho e comentários sobre ele.

À Deus, principalmente, que sempre iluminou meus caminhos e me orientou nos momentos difíceis, que sempre se fez presente quando eu achava que estava só....

Aos pacientes, professores, médicos, enfermeiros, técnicos, que participaram, direta ou indiretamente, no aprendizado da turma Med 99.2.

Aos meus amigos de classe, em especial, à Kelly Suga Sakamoto, ao Cristiano de Assis Pereira Hansen e à Raquel Ferreira José, pela amizade sincera.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVO.....	7
3 MÉTODO.....	8
4 RESULTADOS.....	17
5 DISCUSSÃO.....	25
6 CONCLUSÕES.....	31
7 REFERÊNCIAS.....	32
8.NORMAS ADOTADAS.....	39
9 APÊNDICE.....	40
10 ANEXO	41

RESUMO

Introdução: A neurorrafia término-lateral tem despertado grande interesse na comunidade científica, que está à procura de uma reparação nervosa ideal. Publicações sobre a possibilidade de uma neurorrafia término-lateral eficaz, sem lesão peri-epineural do nervo doador, levaram os autores a realizar essa pesquisa. **Objetivo:** Comparar a força da preensão do *membrum thoracicum* de *Rattus norvegicus* submetidos à reconstrução do nervo mediano, através da interposição de enxerto nervoso, em neurorrafias término-terminais e término-laterais. **Métodos:** 60 ratos foram divididos em 5 grupos: grupo A- nervo mediano normal; grupo B- denervação permanente mediano-ulnar; grupo C- neurorrafia término-terminal com enxerto ulnar; grupo D- neurorrafia término-lateral com fio náilon 10-0; grupo E- neurorrafia término-lateral com cola de fibrina. **Resultados:** grupo A- o grau de força dos animais desse grupo foi estatisticamente superior aos demais; grupo B- os animais desse grupo não apresentaram recuperação funcional do membro operado; grupo C- todos os animais apresentaram força de preensão; grupo D- apenas 45,45% dos animais apresentaram força mensurável; grupo E- somente um rato apresentou força mensurável. **Conclusões:** De acordo com essa pesquisa, a neurorrafia com enxerto término-terminal foi melhor do que as outras formas de reparações nervosas realizadas, porém não atingiu a normalidade. Não há recuperação motora sem lesão peri-epineural do nervo doador em neurorrafia término-lateral.

SUMMARY

Introduction: End-to-side neurorrhaphy has evoked great interest in the scientific community, which has been looking for the ideal nerve repair. Some publications advocated that type of nerve repair to be effective and safe, not evoking major damage to donor nerve peri-epineural sheath. **Purpose:** Evaluate prehension forces in *Rattus norvegicus* specimens, after median nerve repair by means of nerve graft interposition, using both end-to-end and end-to-side neurorrhaphy techniques. **Methods:** 60 rats were allocated 5 different groups: group A – normal median nerve; group B – median-ulnar denervation; group C – end-to-end neurorrhaphy, with ulnar graft; group D – end-to-side neurorrhaphy, with suture 10-0; group E – end-to-side neurorrhaphy, with fibrin glue. **Results:** group A – the degree of prehension forces demonstrated by the specimens allocated that group was considered statistically significant, comparing to the other groups; group B – the specimens allocated that group did not achieve functional recovery; group C – the specimens allocated that group presented measurable prehension forces; group D – only 45,45 % of specimens in that group presented measurable prehension forces; group E – only one rat in that group presented measurable prehension force. **Conclusions:** according this research, end-to-end neurorrhaphy was better than others nerve repair techniques, although complete functional recovery was never achieved. Regarding end-to-side neurorrhaphy, it has been demonstrated, there is no such a nerve sheath sparing repair.

1. INTRODUÇÃO

A microcirurgia vem apresentando um papel fundamental no prognóstico dos pacientes vítimas de lesões de nervo periférico. Dessa forma, estudos para o aprimoramento das técnicas microcirúrgicas de reparação nervosa é de vital importância e tem surtido grande interesse no meio científico a fim de reduzir o número de pessoas inválidas ou de, pelo menos, melhorar sua qualidade de vida.

O trauma nervoso periférico representa 5% de todas as feridas abertas em extremidades devido a esportes e acidentes de carro¹, sendo os acidentes automobilísticos responsáveis por 80-90% das lesões traumáticas do plexo braquial². Os nervos também podem ser lesados por tração durante nascimentos³ e em cirurgias para ressecção de tumores.

No tratamento de lesões nervosa periféricas, em que houve a perda tecidual, como ocorre em traumas abertos ou em cirurgias de ressecção tumoral, há a necessidade de um enxerto nervoso, considerado o padrão ouro⁴ para o tratamento desse tipo de lesão. Apesar dos bons resultados experimentais e clínicos evocados na literatura, a utilização de um nervo sã, como doador de enxerto, acarreta em déficit motor e/ou sensitivo como seqüela na área doadora^{5,6}. Além disso, a qualidade da recuperação funcional é menor em distâncias entre os cotos nervosos maiores de 6 cm⁷. Para que não haja prejuízo da área doadora desse enxerto, diversos estudos experimentais de neurorrafias término-laterais estão sendo realizados, havendo publicações mostrando resultados bem sucedidos com esse tipo de neurorafia em tratamentos de lesão nervosa periférica, de paralisias ou do neurinoma⁸.

1.1 – ANATOMIA DOS NERVOS PERIFÉRICOS

Os nervos periféricos compreendem axônios e as células de Schwann associadas envolvidas pela membrana basal⁹, que tem importância essencial na regeneração nervosa^{10,11,12,13}. A membrana basal é cercada por fibras de colágeno chamadas endoneuro. O endoneuro, prolongamento do espaço subaracnóideo^{14,15}, é composto por axônio e célula de Schwann⁹. Os tubos endoneurais ficam agrupados formando os fascículos. O perineuro, prolongamento da aracnóide^{14,15}, envolve cada fascículo e é composto por fibras de colágeno e camadas concêntricas de células planas, que ficam bem juntas, criando uma barreira de difusão contra

o ambiente ao redor, mantendo uma pressão intrafascicular positiva e protegendo contra infecção. O epineuro, prolongamento da dura-máter^{14,15}, circunda o perineuro, sendo dividido em epineuro interno e epineuro externo. O epineuro interno preenche o espaço entre os fascículos e funciona como um amortecedor para os fascículos. O epineuro externo cerca o nervo e suas camadas são compostas por colágeno e algumas fibras de elastina⁹.

O axônio emite ramos colaterais ao longo de seu trajeto e cada qual inerva uma fibra muscular. O conjunto constituído pelo neurônio e pelas fibras musculares, por ele inervada, é denominado unidade motora¹⁶.

A irrigação dos nervos periféricos geralmente é realizada pelo mesoneuro¹⁷. A *vasa nervorum* divide-se em sistema extrínseco (*mesoneuron*) e sistema intrínseco. Mesmo na ausência de sistema extrínseco, é perfeitamente viável um nervo nutrir-se somente com o sistema intrínseco^{18,19}, pois há um sistema longitudinal de vaso dentro do nervo, que permite a circulação mesmo após uma certa liberação dos tecidos ao seu redor^{17,20}.

A inervação é realizada pela *nervi nervorum*, descrita em 1963 por Hromada²¹, que assinala a presença de linfáticos associados¹⁹.

1.2 – LESÃO DO NERVO PERIFÉRICO

O trauma do segmento do nervo é classificado de acordo com o dano sofrido pelos componentes nervosos, com a funcionalidade nervosa e com a capacidade de recuperação espontânea²².

Seddon (1943) classificou as lesões nervosas em três graus: neuropraxia, *axonotmesis* e *neurotmesis*. A neuropraxia é o grau mais leve da lesão nervosa, caracterizada pela redução ou completo bloqueio da condução nervosa em decorrência a lesão da bainha de mielina do nervo, porém com preservação da continuidade anatômica do nervo. Na *axonotmesis* há a interrupção da estrutura dos axônios, sem lesão do perineuro e do epineuro. Já a *neurotmesis* é o grau mais severo de lesão do nervo periférico, em que ocorre a ruptura completa das estruturas do nervo^{2,22}.

Sunderland (1951) classificou as lesões de nervos periféricos em cinco graus: Lesões grau I, em que há lesão das bainhas de mielina, provocando um bloqueio da condução nervosa temporal, com integridade estrutural do nervo; grau II, em que ocorre a disjunção axonal completa com degeneração walleriana, sem a interrupção da lâmina basal; lesões grau III, em que ocorre a interrupção da lâmina basal e disjunção axonal e endoneural; grau IV com

disjunção axonal, endoneural e perineural; grau V com disjunção axonal completa do tronco nervoso²³.

1.3 – REGENERAÇÃO NERVOSA

Após a transecção nervosa a parte distal do axônio desintegra e sofre a degeneração Walleriana. Os neurofilamentos e microtúbulos do axoplasma se desintegram pela ação proteolítica mediada por enzimas presentes no axoplasma. O restante do axônio é digerido pelos macrófagos que também participam na síntese de fatores de crescimento nervosos (NGF)⁴.

A transecção nervosa também induz o aumento da atividade mitótica das células de Schwann e a proliferação de receptores do NGF na sua superfície, formando as colunas de *Büchner*, que são importantes para o crescimento dos brotos nervosos. Além disso, as células de Schwann sintetizam NGF e, quando os axônios em regeneração avançam pela superfície dessas células, tais fatores se ligam aos receptores do NGF, são transferidos no interior do cone de crescimentos e transportados retrogradamente para o corpo da célula neuronal, contribuindo para a sobrevivência do corpo celular do neurônio. Além do NGF, as células de Schwann também produzem uma variedade de fatores de crescimento, tais como: *insulin-like growth factor-1*, CNTF (*ciliary neurotrophic factor*) e BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*)⁴.

Assim, proximal à lesão há a formação de um grande número de brotos nervosos que atravessam a zona de lesão e continuam seus crescimentos ao longo das colunas de *Büchner*. Terminalmente a esses brotos nervosos, há um cone de crescimento, cuja atividade tem função essencial para determinar a direção de crescimento nervoso. No segmento distal do nervo lesado, as células de Schwann e suas lâminas basais, contendo laminina e fibronectina, são importantes fatores para o avanço da regeneração axonal⁴.

As fibras nervosas periféricas têm capacidade de regenerar sobre longas distâncias na taxa de aproximadamente 1mm/dia²², após uma lesão do tronco nervoso. Mas o sucesso da regeneração depende de fatores cirúrgicos e neurofisiológicos. Dentre estes últimos, podemos citar o número de neurônios que sobreviveram à axotomia, a capacidade de crescimento dos axônios, a re-inervação dos alvos periféricos, assim como a maturação das fibras nervosas e das estruturas-alvo²⁴.

1.4 – NEURORRAFIAS

A primeira descrição de uma cirurgia nervosa foi realizada por William de Saliceto e remonta os anos de 1210-1277²⁵.

Para a reconstrução de um tronco nervoso seccionado, é necessário a reaproximação dos cotos para restabelecer sua continuidade anatômica. Apesar da evolução das técnicas microcirúrgicas, com o aperfeiçoamento contínuo do material, como microscópio operatório, instrumentos cirúrgicos extremamente bem adaptados, fios de sutura e micro-agulhas adequadamente finas e cola de fibrina, os resultados das reparações nervosas ainda não são satisfatórios, pois o tecido cicatricial, conseqüente da reação do organismo à lesão, e a presença de material estranho, que se interpõe entre os cotos nervosos, comprometem a qualidade da recuperação funcional²⁶⁻²⁸. As lesões dos nervos periféricos mais significantes são aquelas que resultam em perda da continuidade nervosa, como as que ocorrem por trauma ou em tratamentos de tumores. Na impossibilidade de uma reaproximação dos cotos nervosos há a necessidade de uma interposição de um enxerto nervoso entre eles²⁹.

Diversas técnicas foram propostas para minimizar a formação do tecido fibrótico de interposição. A entubação dos cotos nervosos com materiais biológicos, como: veias, artérias e osso descalcificado³⁰⁻³⁸, ou com materiais não biológicos, como: os tubos de silicone ou de colágeno^{28,39-43}, foram usados tanto do ponto de vista experimental quanto clínico, porém com resultados não convincentes⁶.

Dessa forma, o enxerto de nervo tradicional ainda permanece o padrão ouro⁴ para as neurorrafias quando houver perda da continuidade nervosa. Apesar dos bons resultados experimentais e clínicos evocados na literatura, a utilização de um nervo sã, como doador de enxerto, acarreta em déficit motor e/ou sensitivo como seqüela na área doadora⁵. Além disso, em distâncias entre os cotos nervosos maiores de 6 cm, a qualidade da recuperação funcional é menor⁷. Por esse motivo, a neurorrafia término-lateral despertou fascínio na comunidade científica a procura do método ideal para a reconstrução de uma lesão nervosa de forma que não ocasionasse lesão do nervo doador ou que não permitisse a detecção clínica dela. Essa técnica poderia apresentar um potencial considerável, como indicado em recente relato de caso⁴⁴.

A neurorrafia término-lateral parece ter sido utilizada, primeiramente, por Letievant (1873) e Huber (1895), entretanto eles não observaram recuperação do nervo implantado⁴⁵. Kennedy⁴⁶, em 1899, realizou a neurorrafia término-lateral para correção de espasmo facial.

Para isso, ele dividiu o nervo facial e o ligou ao nervo acessório, obtendo bons resultados e publicando em 1901⁴⁷. Ballance *et al.*⁴⁸, em 1903, realizou a neurorrafia para tratamento da paralisia facial, suturando o coto distal do nervo facial seccionado lateralmente ao nervo acessório⁴⁷. Em 1992, Viterbo *et al.*⁴⁹ reintroduziu a neurorrafia término-lateral e, desde então, essa técnica vem sendo estudada em numerosos modelos animais⁵⁰⁻⁵⁷.

A neurorrafia término-lateral de nervo periférico tem sido sugerido em situações clínicas em que o segmento proximal do tronco nervoso lesado não está disponível⁴ e, seu objetivo é usar o nervo doador sem sacrificar sua área de inervação⁷. Recentes evidências sugeriam que os pacientes com lesão nervosa, paralisias faciais ou neurinoma podem ser tratadas com sucesso por neurorrafias término-laterais⁸.

Desde estudo, reportado por Cajal⁵⁸, sabe-se que um segmento nervoso distal degenerado exerce uma influência atrativa forte na fibra nervosa em regeneração. Esse conceito é baseado acreditando-se que o neurotropismo é forte suficiente para induzir um brotamento colateral de um axônio intacto em um nervo são⁴. A base fisiológica do fenômeno de brotamento colateral em neurorrafias término-laterais não foi suficientemente analisada⁴. Por exemplo, com a ressecção do epineuro e, talvez, com a lesão do perineuro, o brotamento nervoso pode ser originário de lesão de fibras nervosas do nervo doador. De acordo com Hayashi⁸, quatro hipóteses têm sido propostas para explicar como o nervo regenera após esse procedimento: o nervo lesado regenera e cresce dentro do nervo transplantado⁵⁹; o nervo lesado regenera e cresce bidirecionalmente dentro do nervo transplantado como um nervo doador; ocorre brotamento colateral do nervo doador⁵⁷; após o brotamento colateral, as fibras regeneradas gradualmente se “podam” para evitar dupla inervação⁸. Alguns investigadores têm sugerido que podem ocorrer tanto brotamento colateral motor quanto sensorial com a neurorrafia término-lateral com subsequente recuperação fisiológica do músculo previamente denervado e recuperação funcional significativa. Outros autores têm mostrado que a regeneração sensorial ocorre predominantemente em uma neurorrafia término-lateral 4 a 6 meses pós-operatório⁶⁰.

Segundo Surderland (1968), há três formas de realizar a neurorrafia término-lateral do coto distal do nervo seccionado sobre um nervo são. A primeira consiste em justapor o nervo a reconstruir, sem ressecar as bainhas conjuntivais do nervo doador. A segunda consiste em abrir uma pequena janela no epineuro e/ou em incisar o perineuro. A terceira consiste em abrir o epineuro, seccionar distalmente alguns fascículos e os reciclar para fazer uma anastomose término-terminal com o nervo a neurotizar⁶. Kennedy (1899)⁴⁸ e Sherren já

postulavam que seria essencial uma incisão no nervo doador para promover uma neurografia semelhante a uma anastomose término-terminal entre dois nervos, deixando intacto somente o epineuro do lado oposto ao da neurografia⁶¹. Assim, há um certo consenso na maioria dos autores, que consideram indispensáveis uma lesão das bainhas conjuntivais, principalmente do perineuro e do endoneuro, para a regeneração nervosa^{62-65,6}.

Viterbo, pela primeira vez, verificou que a neurografia término-lateral era efetiva sem a incisão do nervo doador⁶¹ e publicou resultados clínicos e experimentais de seus achados de regeneração nervosa e de re-inervação muscular após anastomose nervosa término-lateral com ou sem lesão de bainhas conjuntivais. Lundborg *et al.*⁵⁷ confirmou suas observações, tendo resultados similares. Porém Bertelli *et al.*⁶⁶ (1996) negou e Noah *et al.*⁶⁷ (1997) evocou a necessidade de uma lesão no sítio de implantação que permita a re-inervação do nervo neurotizado⁶.

A questão atualmente discutida é a possibilidade de uma neurografia término-lateral eficaz, sem a lesão prévia do nervo doador. Diante desse quadro, resolvemos realizar essa pesquisa.

1.5 – MODELO EXPERIMENTAL

Nesse experimento, o rato foi escolhido como modelo experimental pela sua facilidade de manuseio e por possuir componentes do plexo braquial semelhantes aos do humano^{6,68}. Cada nervo é formado da união da raiz posterior sensitiva e raiz anterior motora, que surgem da medula espinhal⁶. Bertelli⁶⁸, em seu estudo anatômico, descreve que o nervo mediano emite um ramo que inerva o músculo flexor radial do carpo (FRC) e os músculos flexores dos dedos. Esse estudo é importante, pois permite a avaliação indireta do nervo mediano pelo teste funcional de preensão.

2. OBJETIVO

Comparar a força da preensão do *membrum thoracicum* de *Rattus norvegicus* submetidos à reconstrução do nervo mediano, através da interposição de enxerto nervoso, em neurorrafias término-terminais e término-laterais.

3. MÉTODO

Essa pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso dos Animais da Universidade Federal de Santa Catarina, cadastrado sob os números 301/CEUA e 23080.014954/2004-94/UFSC. Todos os procedimentos foram realizados no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Santa Catarina em Florianópolis, SC.

3.1 – AMOSTRA

Os experimentos foram realizados em 60 ratos da espécie *Rattus norvegicus*, da linhagem Wistar, adultos, do sexo masculino, pesando 442,72 gr, aproximadamente, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina. No intervalo entre os procedimentos, os animais permaneceram em caixas individuais, no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental e tiveram acesso à água e a ração, própria para a espécie, livremente.

3.2 – MATERIAIS

Microscópio cirúrgico, cola de fibrina, balança de precisão, fita adesiva, instrumentos de microcirurgia, fio náilon 10-0.

3.3 – PROCEDIMENTOS

3.3.1 – Anestesia

Os animais receberam uma injeção sulfato de atropina, na dose de 0,044 mg/kg - peso vivo, por via subcutânea, cerca de dez minutos antes da anestesia. Decorrido o tempo mencionado, foi realizada anestesia geral, mediante o uso de Cloridrato de Cetamina (Ketalar[®]), quimicamente designada como 2 – (o – clorofenil) – 2 – (Metil-Amina) Ciclo Hexanona e de Cloridrato de 2 – (2,6 – xilidino) – 5,6 Dimidro – 4 H – 1,3 Tiazina (Rompun[®]), nas doses de 100 mg/ kg e 10 mg / kg respectivamente, administradas em uma única injeção, por via intramuscular, na face interna do *membrum pelvinum*. O animal foi

considerado anestesiado quando foi abolido o reflexo córneo palpebral e não exibiu reação motora à prensão do coxim adiposo de qualquer um dos membros.

3.3.2 – Operação cirúrgica

Os animais foram colocados em decúbito dorsal sobre um suporte de madeira 30 x 35 cm e imobilizados, com seu *membrum thoracicum* esquerdo disposto a 90 graus, por meio da fixação com fita adesiva.

A cirurgia foi realizada no *membrum thoracicum* esquerdo de todos os animais. Foi realizada a tricotomia na face medial do *membrum thoracicum* escolhido e no hemitórax *ipsilateral*, incluindo a região axilar. O iodo povidine tópico foi aplicado no local para anti-sepsia. Logo após, foram colocados os campos operatórios para a cirurgia.

Os experimentos realizados foram sempre *neurotmesis* (Seddon, 1942), conhecidas por lesão do quinto grau (Sunderland, 1951), em que a recuperação espontânea é praticamente impossível, necessitando de uma intervenção cirúrgica para a restauração da continuidade anatômica do nervo no plano macroscópico.

O nervo mediano foi abordado ao nível do braço por uma incisão cutânea, que teve trajeto contínuo envolvendo a papila mamária superior e o cotovelo, sendo prolongada até o segmento distal do *membrum thoracicum*. O bordo do músculo peitoral maior foi reparado e o canal braquial identificado. Depois, esse músculo foi desinserido ao longo da clavícula, respeitando a veia cefálica, e o músculo peitoral menor, desinserido da apófise coracóide. O nervo mediano encontrava-se sempre medialmente à inserção, no osso rádio, do tendão do músculo bíceps braquial. O nervo ulnar foi abordado da mesma forma que o nervo mediano ao nível do braço, mas com muita precaução, pois a artéria braquial o acompanha pelo canal braquial passando pelo versante medial do membro. Esse nervo passa posteriormente à epitróclea e caminha do lado ântero-medial do antebraço⁶.

3.4 – FORMAÇÃO DE GRUPOS PARA O EXPERIMENTO

Foram utilizados 60 ratos para a realização do experimento. Os ratos foram distribuídos em 5 grupos, cada qual composto por 12 ratos:

Grupo A: nervo mediano normal (n=12)

O nervo ulnar foi ressecado em 10 mm de extensão e seu coto proximal, ligado com fio náilon 10-0. O nervo mediano foi dissecado, mas deixado intacto.

Grupo B: denervação permanente mediano-ulnar (n=12)

Os nervos ulnar e mediano foram ressecados em 10 mm de extensão e seus cotos proximais, ligados com fio náilon 10-0.

Grupo C: neurografia término-terminal com enxerto ulnar (n=12)

O nervo ulnar foi ressecado em 20 mm de extensão para servir como auto-enxerto e seu coto proximal foi ligado com fio náilon 10-0. O nervo mediano foi ressecado em 10mm de extensão e seu eixo nervoso refeito por intermédio do enxerto nervoso ulnar. As neurografias, para inserção do enxerto ulnar no nervo mediano, foram realizadas com dois pontos de sutura em cada extremidade nervosa, utilizando-se o fio náilon 10-0.

Grupo D: neurografia término-lateral com fio náilon 10-0 (n=12)

O nervo mediano foi secionado meio centímetro acima do cotovelo. O segmento proximal retornado em “U”, e estabilizado no músculo serrátil por um ponto de sutura com fio de náilon 10-0. Um segmento de 20 mm do nervo ulnar foi retirado para servir de auto-enxerto. O coto proximal do nervo ulnar foi ligado com fio náilon 10-0. Uma das extremidades desse enxerto foi anastomosada por um “ponto em gravata”, no vértice do “U” formado pelo nervo mediano. A outra extremidade do enxerto foi anastomosada ao coto distal do nervo mediano e fixado com dois pontos de sutura utilizando-se fio náilon 10-0, refazendo o eixo nervoso do nervo mediano.

Grupo E: neurorrafia término-lateral com cola de fibrina (n=12)

Foi realizada a mesma cirurgia do grupo anterior, mas a anastomose realizada na extremidade do vértice do “U”, formado pelo nervo mediano, com o enxerto ulnar foi realizada com uma gota de cola de fibrina (*Tissucol[®]*, *Baxter*).

Os grupos A e B foram considerados grupos controle.

Todos os ratos tiveram o seu couro fechado com fio catgut 4-0 por meio de pontos separados simples e receberam marcação individual (figura 2 e apêndice) em suas respectivas orelhas de forma a identificá-los.

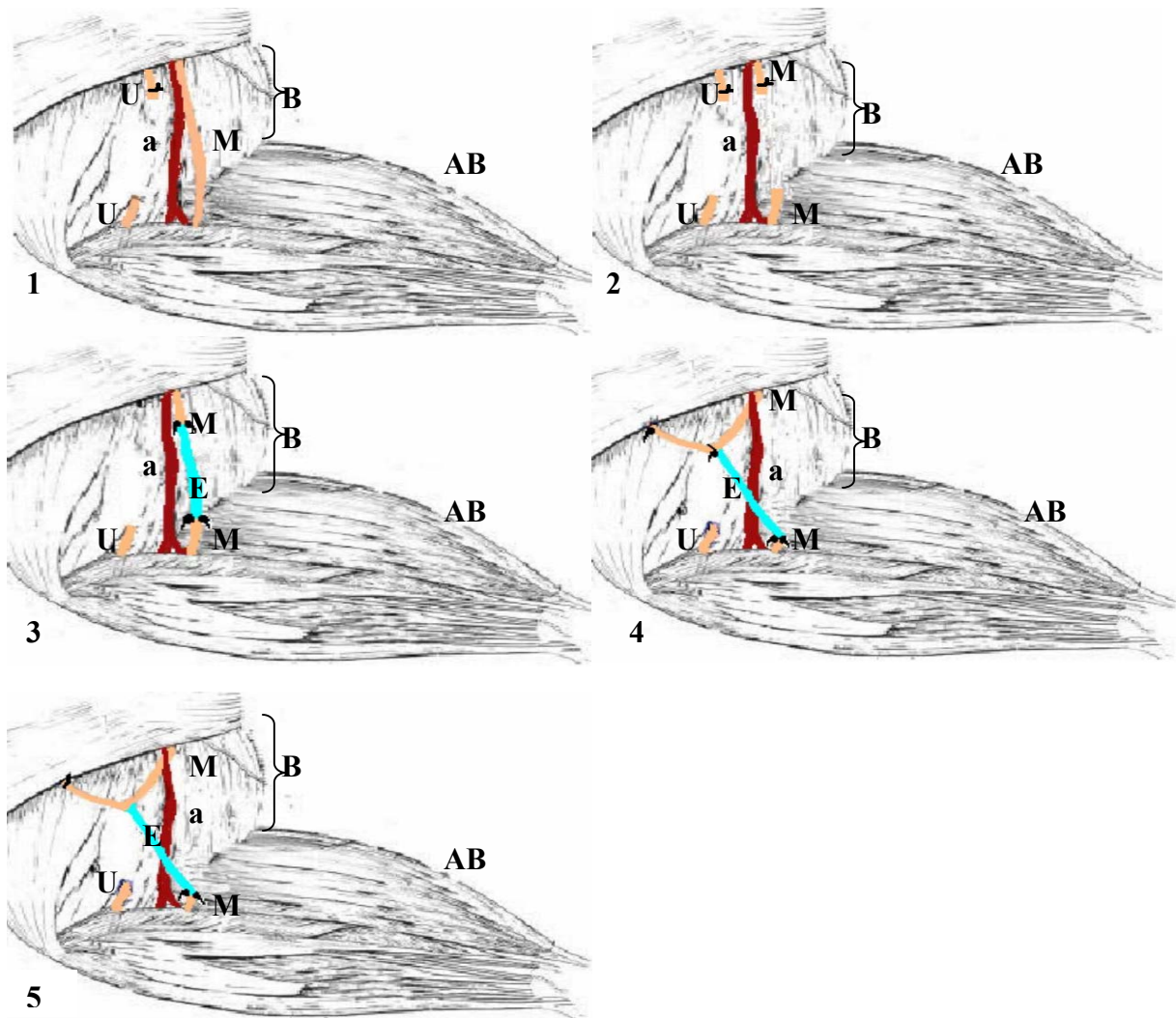


Figura 1 - Desenhos esquemáticos das operações cirúrgicas realizadas no *membrum thoracicum* esquerdo do rato.

Legenda:

1. grupo A: nervo mediano normal
2. grupo B: denervação permanente mediano-ulnar
3. grupo C: neurorrafia término-terminal com enxerto ulnar
4. grupo D: neurorrafia término-lateral com fio náilon 10-0
5. grupo E: neurorrafia término-lateral com cola de fibrina

M: nervo mediano
a: artéria braquial
U: coto nervoso ulnar
E: enxerto nervoso proveniente do nervo ulnar
B: braço
AB: ante-braço



Figura 2 - *Rattus norvegicus* marcado em sua orelha para identificação individual (seta)

3.5 – MÉTODO DE AVALIAÇÃO FUNCIONAL NO RATO

O teste de força da preensão (*Grip Strength Test* – Perrine & Takesue, 1968) foi realizado para estudar o valor de recuperação funcional do nervo mediano na técnica proposta. Esse teste foi baseado no comportamento do animal, que permite avaliar a qualidade funcional de regeneração nervosa e da reinervação muscular após o reparo cirúrgico de uma lesão nervosa experimental, em particular aquela dos músculos flexores do punho e dos *digitus* do *membrum thoracicum* do rato, comandada pelo nervo mediano⁶. Com a secção do nervo mediano, o rato fica incapaz de flexionar os *digitus* de seu *membrum thoracicum* correspondente. O retorno da função foi controlado quinzenalmente pelo teste de força da preensão. Para isso, envolveu-se o *membrum thoracicum* normal (não operada - direita) com esparadrapo para que o rato pudesse usar somente a contra-lateral, cujo resultado da força se queria medir (figura 3). Nesse teste de preensão, o rato agarrava a barra, exercendo uma força de tração sobre ela, que estava ligada a uma balança eletrônica comum tarada com um peso de aproximadamente 500gr sobre ela. A força exercida no ferro era traduzida negativamente no visor da balança. No momento em que o animal soltava o ferro, o valor era registrado.

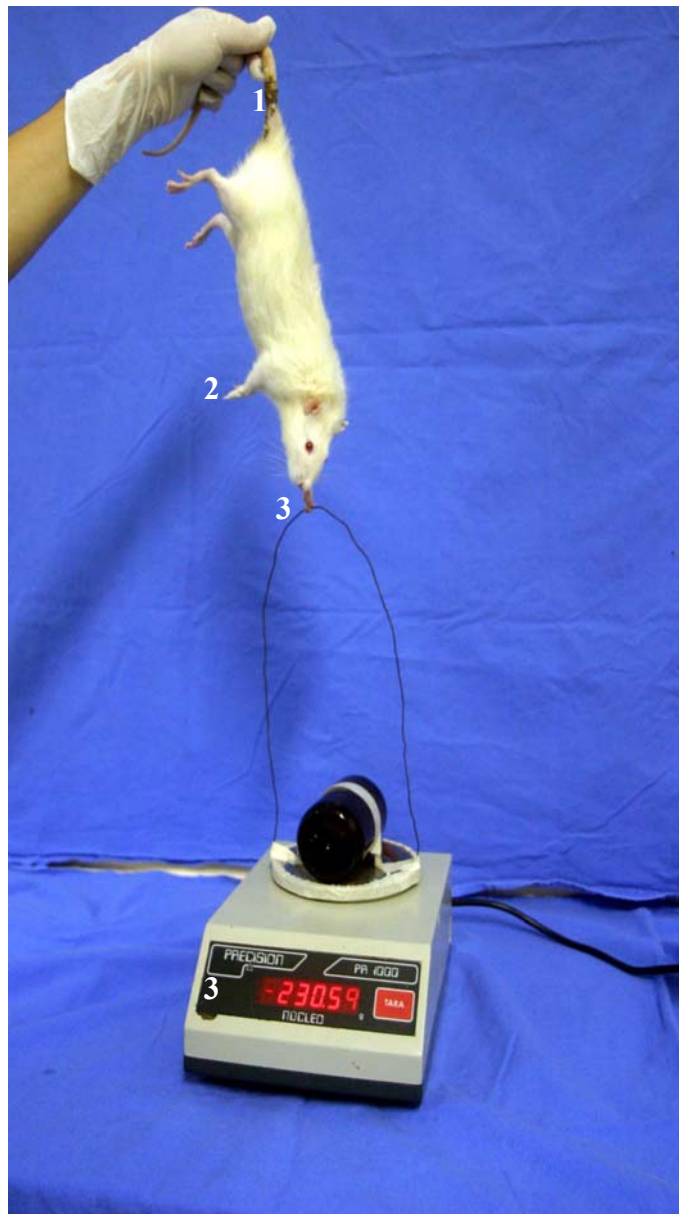


Figura 3 - Medida da força de preensão do *membrum thoracicum* operado.

1. Para o teste de preensão, o rato era suspenso pela cauda de forma que ele pudesse pegar o ferro.
2. O *membrum thoracicum* direito era imobilizado com esparadrapo para que não interferisse no teste.
3. o rato segurava a barra, exercendo uma força de tração sobre ela, que estava ligada a uma balança eletrônica comum tarada com um peso de aproximadamente 500gr sobre ela. A força exercida no ferro era traduzida negativamente no visor da balança. No momento em que o animal soltava o ferro, o valor era registrado.

O percentual de recuperação funcional (PRF) foi avaliado quinzenalmente em cada grupo experimental, por meio do cálculo:

$$PRF = \frac{MFR}{MFA} \times 100$$

MFR: média das forças, de determinado grupo, mensuradas em determinado dia pós-operatório

MFA: média das forças, do mesmo grupo, mensuradas antes da cirurgia

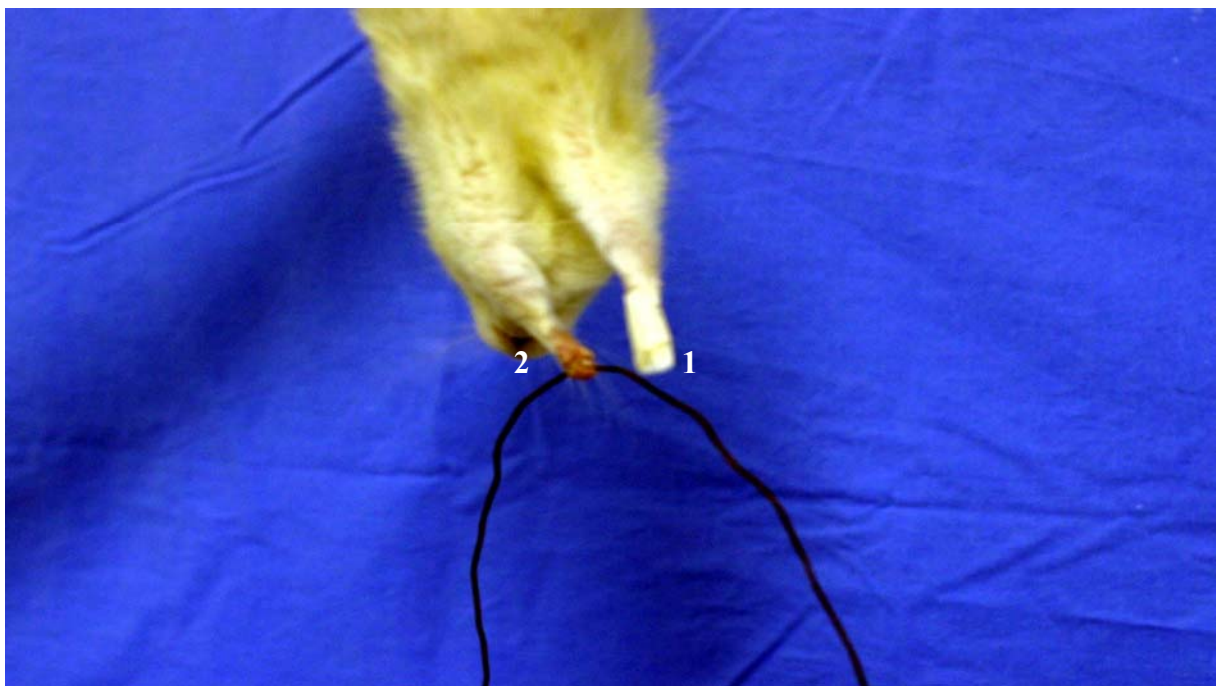


Figura 4 - Teste da força de preensão demonstrando fechamento dos *digitus do membrum thoracicum* esquerdo decorrente à passagem de estímulo nervoso, através do nervo mediano, aos músculos flexores dos dedos.

1. *membrum thoracicum* direito era envolvido com esparadrapo para que não interferisse no teste.
2. os *digitus do membrum thoracicum* normais ou funcionalmente reinervados seguravam a barra.

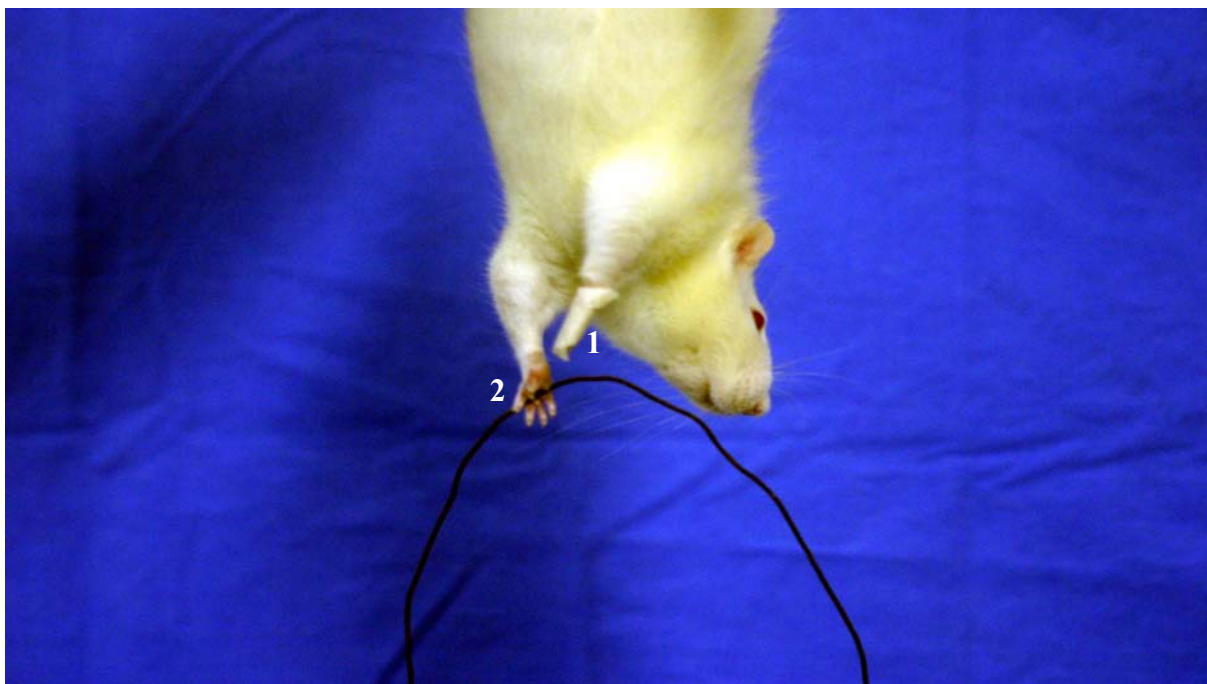


Figura 5 - Teste da força de preensão demonstrando paralisia do *membrum thoracicum* esquerdo decorrente ao bloqueio de passagem do estímulo nervoso aos músculos flexores dos dedos.

1. *membrum thoracicum* direito era envolvida com esparadrapo para que não interferisse no teste.
2. os *digitus* do *membrum thoracicum* denervado permaneciam em extensão, parálítica, e não podiam segurar o ferro.

Ao final do estudo, os animais foram submetidos à eutanásia. Para isso, foi administrado cloreto de potássio a 19,1%, por via endovenosa, nos animais previamente anestesiados, provocando parada cardíaco-respiratória e morte.

3.6 – MÉTODOS ESTATÍSTICOS

A análise de variância das médias foi efetuada pelo método ANOVA com auxílio do programa *Microsoft Excel* para *Windows*®. O valor “p” < 0,05 foi considerado de significância estatística.

4. RESULTADOS

Durante o período de investigação, 8 ratos evoluíram à óbito: 1 do grupo A, 2 do grupo B, 2 do grupo C, 1 do grupo D e 2 do grupo E.

Tabela 1: Resultados das forças mensuradas quinzenalmente em ratos do grupo A (nervo mediano normal)

RATO	FORÇA (gr)				
	Pré-operatório	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
1	302	388	355	401	391
2	335	265	379	326	385
3	292	434	345	349	357
4	284	423	370	434	401
5	270	360	341	369	361
6	384	392	438	328	436
7	372	282	368	313	383
8	231	440	373	433	444
9	335	314	423	407	446
10	357	311	436	363	389
11	359	309	315	412	327
12	319	346	403	361	418
Média (gr)	320	355,333	378,833	374,67	394,83

RATO	FORÇA (gr)				
	75 dias	90 dias	105 dias	120 dias	135 dias
1	417	429	407	426	237
2	377	420	401	379	396
3	361	433	348	348	358
4	384	427	457	†	-
5	357	375	441	416	329
6	440	427	374	405	387
7	228	323	312	380	564
8	433	436	427	416	345
9	430	441	371	316	382
10	432	412	359	279	442
11	256	366	410	369	273
12	259	369	439	330	376
Média (gr)	364,5	404,83	395,5	369,5	371,727

† óbito

Tabela 2: Resultados das forças mensuradas quinzenalmente em ratos do grupo B (denervação permanente mediano-ulnar)

RATO	FORÇA (gr)				
	Pré-operatório	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
1	276	0	0	0	0
2	409	0	0	0	0
3	382	0	0	0	0
4	352	0	0	0	0
5	325	0	0	0	0
6	326	0	0	0	0
7	257	0	0	0	0
8	236	0	0	0	0
9	349	0	0	0	0
10	341	0	0	0	0
11	393	0	0	0	0
12	338	0	0	0	0
Média (gr)	332	0	0	0	0

RATO	FORÇA (gr)				
	75 dias	90 dias	105 dias	120 dias	135 dias
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	†	-
7	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	†
10	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0
Média (gr)	0	0	0	0	0

† óbito

No grupo B, não houve recuperação funcional do membro submetido à operação cirúrgica.

Tabela 3: Resultados das forças mensuradas quinzenalmente em ratos do grupo C (neurorrafia término-terminal com enxerto ulnar)

RATO	FORÇA (gr)				
	Pré-operatório	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
1	356	0	0	0	110
2	391	0	0	0	0
3	225	0	0	0	109
4	267	0	0	0	241
5	224	0	0	0	52
6	272	0	0	0	0
7	201	0	0	0	0
8	270	0	0	0	0
9	361	0	0	0	0
10	393	0	0	0	86
11	379	0	0	0	86
12	384	0	0	0	89
Média (gr)	303,545	0	0	0	64,417

RATO	FORÇA (gr)				
	75 dias	90dias	105 dias	120dias	135 dias
1	184	207	359	146	111
2	163	118	221	77	134
3	153	162	188	326	438
4	224	252	†	-	-
5	135	106	121	149	118
6	118	109	107	220	179
7	220	189	371	93	82
8	†	-	-	-	-
9	133	60	69	185	114
10	0	19	115	95	153
11	104	159	164	143	198
12	121	116	393	105	196
Média (gr)	141,36	136,09	210,8	153,9	172,3

† óbito

7 ratos em 12 ou 58,33% dos ratos apresentaram força a partir de 60 dias, e 100% apresentaram força a partir de 90 dias.

Tabela 4: Resultados das forças mensuradas quinzenalmente em ratos do grupo D (neurorrafia término-lateral com fio náilon 10-0)

RATO	FORÇA (gr)				
	Pré-operatório	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
1	332	0	0	0	0
2	364	0	0	0	0
3	342	0	0	0	0
4	324	0	0	0	0
5	450	0	0	0	0
6	249	0	0	0	0
7	340	0	0	0	0
8	300	0	0	0	0
9	300	0	0	0	0
10	354	0	0	0	0
11	308	0	0	0	0
12	322	0	0	0	0
Média (gr)	332,0833	0	0	0	0

RATO	FORÇA (gr)				
	75 dias	90 dias	105 dias	120 dias	135 dias
1	0	0	0	0	249
2	0	0	0	0	296
3	0	45	0	0	184
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	95
7	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0
9	†	-	-	-	-
10	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	77
12	0	0	0	0	0
Média (gr)	0	4,0909	0	0	81,9091

† óbito

Somente 1 rato apresentou início de força aos 90 dias pós-operatório.

5 ratos em 11 ou 45,45% dos ratos apresentaram força após 135 dias.

A média das forças, entre os ratos que recuperaram a força, foi de 180,2 gr.

Tabela 5: Resultados das forças mensuradas quinzenalmente em ratos do grupo E (neurorrafia término-lateral com cola de fibrina)

RATO	FORÇA (gr)				
	Pré-operatório	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
1	398	0	0	0	0
2	401	0	0	0	0
3	321	†	-	-	-
4	407	0	0	0	0
5	336	0	0	0	0
6	337	0	0	0	0
7	346	0	0	0	0
8	363	0	0	0	0
9	385	0	0	0	0
10	343	0	0	0	0
11	395	0	0	0	0
12	410	0	0	0	0
Média (gr)	370,1666667	0	0	0	0

RATO	FORÇA (gr)				
	75 dias	90 dias	105 dias	120 dias	135 dias
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	-	-	-	-	-
4	0	0	0	121	119
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
7	0	0	†	-	-
8	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0
Média (gr)	0	0	0	12,1	11,9

† óbito

Ao final de 135 dias, somente 1 rato apresentou força de 119gr.

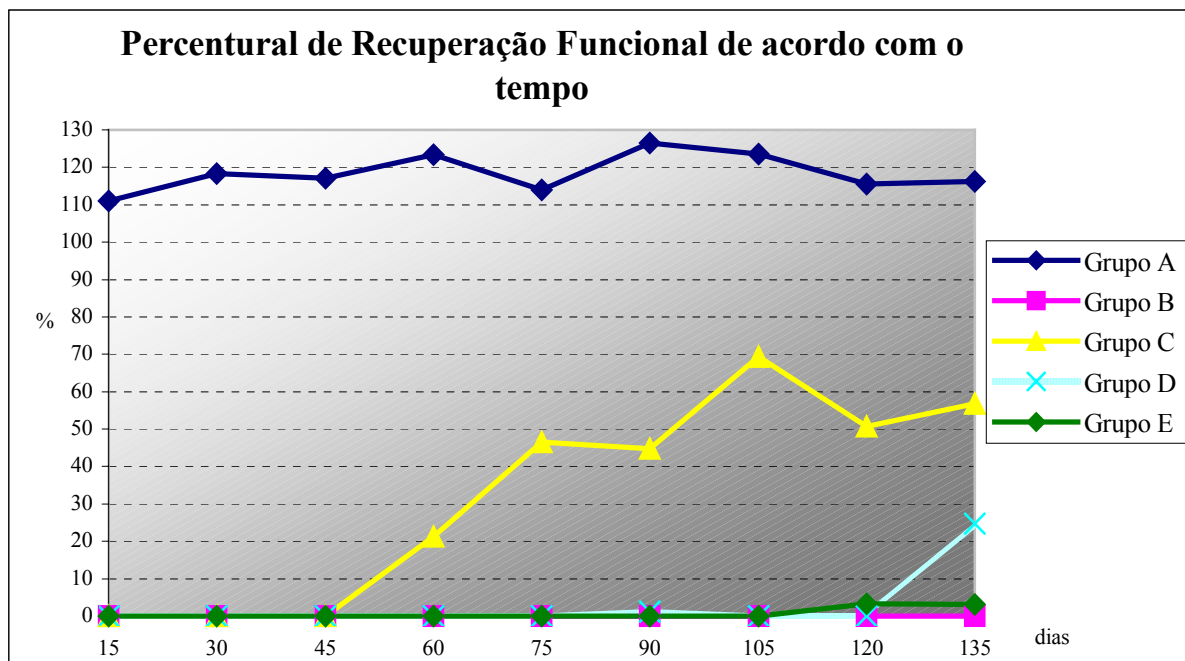


Figura 6 - Gráfico comparando o percentual de recuperação funcional de cada grupo experimental avaliados quinzenalmente pelo teste da força de preensão

Grupos:

- Grupo A: nervo mediano normal
- Grupo B: denervação permanente mediano-ulnar
- Grupo C: neurorrafia término-terminal com enxerto ulnar
- Grupo D: neurorrafia término-lateral com fio náilon 10-0
- Grupo E: neurorrafia término-lateral com cola de fibrina

Cálculo do Percentual de Recuperação Funcional (PRF):

$$PRF = \frac{MFR}{MFA} \times 100$$

MFR: média das forças, de determinado grupo, mensuradas em determinado dia pós-operatório

MFA: média das forças, do mesmo grupo, mensuradas no pré-operatório

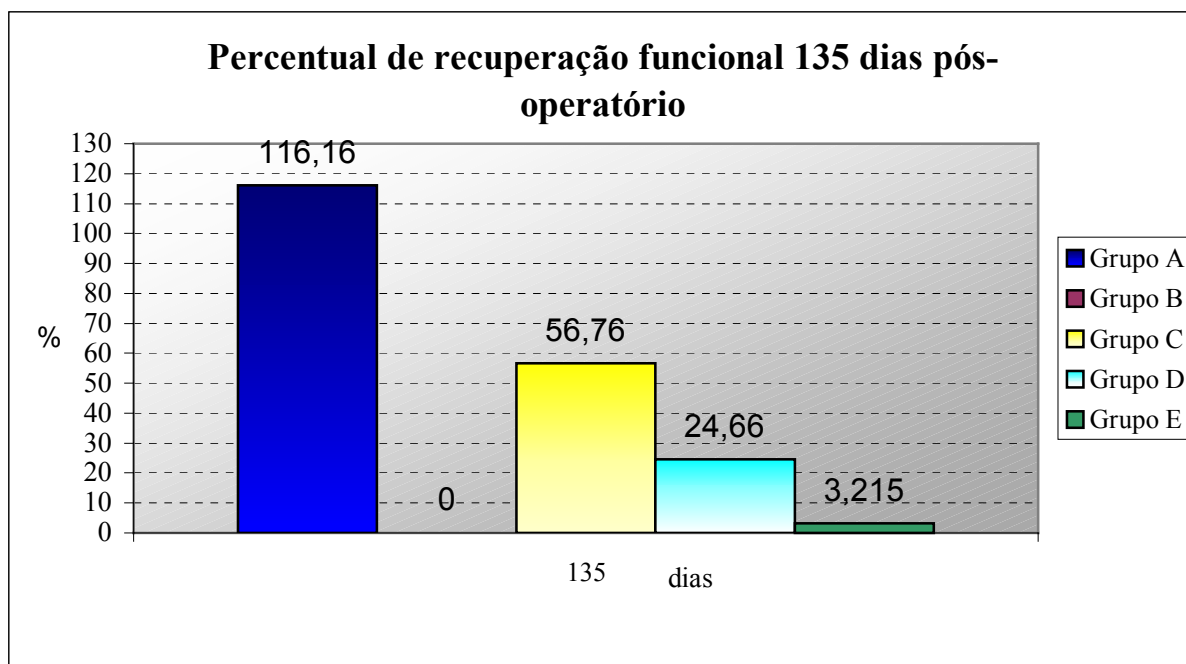


Figura 7 - Gráfico comparando o percentual de recuperação funcional de cada grupo experimental após 135 dias, avaliados pelo teste da força de preensão

Grupos:

- A: nervo mediano normal
- B: denervação permanente mediano-ulnar
- C: neurorrafia término-terminal com enxerto ulnar
- D: neurorrafia término-lateral com fio náilon 10-0
- E: neurorrafia término-lateral com cola de fibrina

Cálculo do Percentual de Recuperação Funcional (PRF):

$$PRF = \frac{MFR}{MFA} \times 100$$

MFR: média das forças, de determinado grupo, mensuradas em determinado dia pós-operatório.

MFA: média das forças, do mesmo grupo, mensuradas no pré-operatório.

4.1 – RESULTADOS ESTATÍSTICOS:

O grupo A (nervo mediano normal) apresentou medição de forças estatisticamente superior aos demais grupos.

O grupo C (neurorrafia término-terminal com enxerto ulnar), em que todos os animais vivos recuperaram a força de preensão, foi inferior estatisticamente ao grupo A, mas superior aos grupos B, D e E.

O grupo D (neurorrafia término-lateral com fio náilon 10-0), apesar de ter apresentado recuperação da força, ela iniciou na última medição (135 dias) e em apenas metade dos ratos. Isso fez com que não houvesse diferença estatisticamente significativa com os grupos B (denervação permanente mediano-ulnar) e E (neurorrafia término-lateral com cola).

5. DISCUSSÃO

Métodos histológicos, histomorfométricos e eletrofisiológicos podem ser indicadores confiáveis de regeneração nervosa, mas não correlacionam com a recuperação funcional após neurografia^{69,70}. Um método bem estabelecido e amplamente usado para avaliação da recuperação motora após lesão nervosa é a análise do padrão de caminhada através da gravação de pegadas⁷¹. Entretanto, devido à natureza subjetiva das medidas e uma variedade de outros fatores (úlceras no calcanhar, contratura e perda de *digitus*) ela não pode ser considerada como indicadora precisa de função⁶⁹. Para que um teste de função do membro seja válido, a atividade deve ser espontânea, voluntária e os resultados devem ser objetivos, precisos e reproduzíveis⁶⁹. Assim, o *Grip Strength Test* seria o mais adequado para avaliação funcional do membro acometido, sendo um teste simples, não invasivo e efetivo, pois indica o dia preciso do início da recuperação nervosa e demonstra sua melhora com o tempo⁶⁸. Por esse motivo, esse teste foi escolhido para a avaliação funcional das neurografias em nosso experimento.

O *Grip Strength Test* não mede um reflexo, mas uma resposta cortical^{72,68}, por isso o nervo cutâneo lateral do antebraço foi preservado em nosso experimento para que haja sensibilidade do *membrum thoracicum* para o teste de força da preensão.

O nervo ulnar foi ressecado em todos os grupos para que não influencie no *Grip Strength Test*. No grupo A (nervo mediano normal) de nossa pesquisa, a força de preensão não foi modificada em todas as medidas de forças realizadas no pós-operatório. Então, podemos supor que o nervo ulnar não influencia na força de preensão do *membrum thoracicum* do rato. A análise estatística verificou, neste estudo, que o grupo A apresentou medição da força estatisticamente superior aos demais grupos. Além disso, nenhum grupo submetido à reparação nervosa, com interposição de enxerto nervoso, atingiu a normalidade. Conforme observado por alguns autores^{73,74}.

No grupo B (denervação permanente mediano-ulnar) não houve recuperação motora do membro submetido à cirurgia comprovado pela paralisia do *membrum thoracicum* denervado (figura 5). Tal observação demonstra que sem o nervo mediano, não há ação dos músculos flexores dos dedos do rato^{6,68,74}.

No grupo C (neurorrafia término-terminal com enxerto ulnar), 7 ratos em 12 do grupo ou 58,33% dos ratos apresentaram força inicial registrada pelo teste de força de preensão a partir de 60 dias, e todos os ratos apresentaram força aos 90 dias. O percentual de recuperação da força de preensão atingiu um pico de 69,45% aos 105 dias, caiu para 50,50% aos 120 dias e subiu para 56,76% aos 135 dias. Essas variações das forças registradas são decorrentes à influência do meio e do comportamento do animal, mas a análise estatística mostrou que a neurorrafia término-terminal, nesse experimento, foi estatisticamente melhor nesse grupo do que nos demais grupos submetidos à neurorrafias término-laterais, porém não alcançou a normalidade representada pelo grupo A. Bertelli *et al.*⁷⁴, quando interpôs enxerto de 40 mm no nervo mediano de ratos, observou início da recuperação motora 43,7 dias pós-operatório, avaliada pelo *Grip Strength Test*, e todos os ratos recuperaram a função motora após o enxerto nervoso, com recuperação de 65% 360 dias pós-operatório.

Diversos trabalhos científicos estão sendo realizados à procura do método ideal de neurorrafias, pois os resultados de uma reparação nervosa ainda são modestos em decorrência à persistência de uma grande desorganização ao nível da linha de sutura^{27,28}. Mesmo em condições ideais, a recuperação funcional depende de numerosos parâmetros, em particular da capacidade dos axônios de atravessarem a linha de sutura e dos erros de “agulhagem”^{75,27,29} dos axônios em recuperação, pois os axônios devem atravessar a área de fibrose na linha de sutura a fim de entrar na lâmina basal das células de Schwann para a reconecção com seu órgão-alvo⁶. O destino de numerosos axônios é profundamente modificado em função dos numerosos erros de “agulhagem”, como por exemplo: alguns axônios se perdem nos tecidos circundantes; outros não atravessam a área de fibrose e participam na formação de neuromas; outros conseguem chegar ao coto distal, prosseguindo em direção à periferia. Pode ocorrer também a colonização de basais diferentes daquelas que ocupavam antes da lesão, ou seja, um axônio motor pode entrar em uma basal pertencente a um axônio sensitivo e vice-versa ou ainda, axônios extensores podem entrar em uma basal que o conduzirá a um músculo flexor, o que provocará fenômenos de “co-contração”⁶. Além disso, pode ocorrer o fenômeno de “poda”, em neurorrafias término-laterais, para evitar dupla inervação⁸. Assim, a quantidade de erros de “agulhagem” influenciará no retorno funcional do músculo re-inervado, que é dependente da quantidade de fibras nervosas que o inerva⁶.

A neurorrafia término-terminal é considerada a intervenção padrão ouro para correções de perda da continuidade nervosa, porém é limitado pela disponibilidade de nervo doador,

cicatrizes e neuromas doloridos que ocorrem na área doadora⁷⁶. As técnicas microcirúrgicas e os enxertos nervosos autógenos ainda são a base da reconstrução do nervo periférico moderna^{77,6}. O propósito do uso de um enxerto nervoso autólogo é fornecer um conduto consistindo de uma lâmina basal junto com sua célula de Schwann correspondente⁴. Usualmente um nervo sensorial, como o nervo sural, é usado como nervo doador¹. Nervos intercostal, frênico, acessório, C7 contra-lateral, torácico longo, peitoral e ulnar têm sido utilizados com sucesso como doadores em lesão do plexo braquial⁷⁸. Porém, a perda da função do nervo doador de enxerto nervoso é inevitável. Tubos de silicones não podem ser usados como alternativa para enxerto nervoso muito longo por serem impermeáveis⁴, mas tais tubos, juntos com vários tipos de fatores, células e materiais poderiam ser utilizados para melhorar a regeneração⁴. Assim, materiais não biodegradáveis e biodegradáveis, com ou sem impregnação de fatores de crescimento estão sendo investigados. Porém emprego dos tubos na regeneração nervosa parece ser eficaz em perdas de substância nervosa em até 30mm em seres humanos e 10 mm em ratos⁷⁹. Além disso, diante da impossibilidade de se localizar o coto nervoso proximal, o uso de enxerto seria inviável. Com isso, a neurorrafia término-lateral despertou grande interesse, pois independe da distância entre os cotos nervosos, sendo necessário apenas um nervo doador próximo ao coto nervoso lesado. Esse tipo de neurorrafia seria uma alternativa para o enxerto nervoso⁷⁸.

Recentemente muitos pesquisadores descobriram que após neurorrafia término-lateral, há regeneração nervosa que sugere ocorrer brotamento colateral^{57,70,80} em nervos periféricos. Os mecanismos do brotamento colateral ainda não estão bem claros⁸⁰. Na maioria dos modelos de neurorrafias término-laterais, é realizado uma janela epineural no nervo doador. Se uma pequena parte das fibras do nervo doador for lesada durante o procedimento de abertura da janela ou durante a sutura, o coto proximal das fibras lesadas irá se regenerar em três padrões: crescimento para o coto distal do nervo doador; crescimento para o coto distal do nervo receptor; brotamento no qual um braço vai para o coto distal do nervo doador e outro penetra no nervo receptor⁸⁰. Xiong *et al.*⁸⁰ realizaram neurorrafia término-lateral suturando o coto distal do nervo fibular no nervo tibial intacto, com janela epineural, e neurorrafia término-terminal do nervo fibular com objetivo de procurar evidências maiores de brotamento colateral após neurorrafia término-lateral utilizando método de dupla marcação retrógrada modificada, e de investigar a função do axônio motor regenerado com avaliação eletrofisiológica. Os resultados sugeriam que a neurorrafia término-lateral poderia induzir o

brotamento colateral funcional tanto do axônio motor quanto sensorial no nervo periférico. A velocidade de condução do nervo motor sugeria que a função das fibras motoras do brotamento colateral poderia ser tão boa quanto daquelas no modelo de neurografia término-terminal, sem enxerto.

Giovanoli *et al.*⁷⁰ verificaram que a taxa de recuperação funcional dos músculo reto femoral reinervado por neurografia término-lateral, com janela epineural, alcançou mais do que 90 por cento do músculo normal contra-lateral avaliados pela força tetânica isométrica. O músculo vasto medial doador desenvolveu tensão tetânica máxima durante a contração isométrica que foi até 149 por cento do músculo controle vasto medial do lado contralateral sem tratamento. Kalliainen *et al.*⁵⁹ concluíram que a força do músculo reinervado foi semelhante para a neurografia término-lateral, com janela epineural, e a neurografia término-terminal, avaliadas pela contração tetânica isométrica 6m pós-operatório. Sundine *et al.*⁷³ e Xiong *et al.*⁸⁰ compararam neurografias término-terminais e término-laterais, com janela epineural, e verificaram que o retorno da função foi mais rápido no grupo em que foi realizado neurografia término-terminal, comparado com os grupos em que foi realizado neurografia término-lateral.

No grupo D (neurografia término-lateral com fio náilon 10-0) de nosso estudo, observou-se que somente 45,45% ou 5 dos 11 ratos submetidos à neurografia término-lateral, com interposição de enxerto ulnar, passaram a apresentar força 135 dias pós-operatório, tendo um resultado significativo em um momento pontual, somente na última medição. Porém não foi estatisticamente diferente nem do grupo E (neurografia término-lateral com cola de fibrina) e nem do grupo B (denervação permanente mediano-ulnar) no decorrer do tempo, contrariando com o estudo de Viterbo *et al.*⁵⁰. Provavelmente a recuperação motora, 135 dias pós-operatório, do grupo D (neurografia término-lateral com fio náilon 10-0) de nosso estudo foi decorrente ao processo inflamatório no local em que o fio de sutura ficou em contato com o epineuro do nervo doador, conforme estudo de Accioli de Vasconcellos⁶.

Viterbo *et al.*⁵⁰ propôs que a regeneração nervosa poderia ocorrer sem a lesão no peri-epineuro do axônio doador. A partir disso, estudos experimentais com neurografias término-laterais, sem lesão peri-epineural do nervo doador, passaram a ser realizados. Viterbo *et al.* em seus estudos comparativos em ratos machos da linhagem Wistar compararam neurografias término-laterais com e sem lesão do nervo doador suturando o coto distal do nervo fibular, previamente seccionado, na face lateral do nervo tibial. Nesse experimento, concluíram que

não havia diferenças morfológicas e eletrofisiológicas entre as neurorrafias estudadas⁶¹. Porém, nesse estudo, o autor não menciona o tipo de sutura realizada na neurorrafia. Dessa forma, fica difícil avaliar se, realmente, o epineuro do nervo doador não havia sido lesado, pois, no local em que se realiza uma sutura, o fio de sutura causa uma lesão nervosa na região da anastomose resultando em uma zona necrótica, circundada por infiltrado celular de provável origem inflamatória, em que as fibras nervosas saem do nervo doador em direção do enxerto receptor, contornando a zona de necrose⁶.

No grupo E de nosso estudo, somente 1 rato em 10 ou 10% apresentaram movimento dos *digitus* do *membrum thoracicum* com força de 119 gr ou percentual de recuperação da força de preensão de 3,21% após 135 dias da operação. Porém, foi um caso isolado, podendo ser decorrente à lesão peri-epineural durante a dissecação ou ao crescimento desorientado das fibras nervosas do coto proximal do nervo mediano, tendo, algumas delas, penetrado no coto proximal do enxerto ulnar localizado no vértice do nervo mediano. A análise estatística mostrou que não houve diferenças entre os grupos B, D e E, ou seja, a técnica de neurorrafia término-lateral mostrou-se ineficaz. Concordando com estudos realizados por Bertelli *et al.*⁶⁶, que falharam em demonstrar a regeneração nervosa em neurorrafia término-lateral sem a janela epineural, provavelmente porque a cola de fibrina não produz uma lesão peri-epineural⁵². Atualmente, a cola de fibrina tem sido usada por vários cirurgiões que acreditam minimizar a lesão do tecido⁴, sendo considerada melhor do que o fio de sutura, pois a cola não causa um obstáculo para a progressão do broto nervoso, como a sutura, que desvia significativamente a direção das fibras nervosas em crescimento⁸¹. Dessa forma, a cola biológica seria ideal para utilização em neurorrafias.

A interposição de enxerto nervoso em neurorrafia término-lateral já fora realizada em alguns estudos experimentais. Goheen-Robillard *et al.*⁶⁰ realizaram neurorrafias término-laterais, com janela epi-perineural do nervo doador, interpondo 8 cm de enxerto de nervos ciáticos entre o nervo doador tibial esquerdo e o coto terminal do nervo tibial direito. Ao final de 24 semanas, observaram a passagem de axônios no enxerto e um aumento significativo no número de axônios no reparo imediato comparado com o reparo tardio, porém nenhum animal recuperou a habilidade motora funcional avaliada pela observação das pegadas. Sundine *et al.*⁷³ compararam neurorrafias término-terminais e término-laterais, com janela epineural, e verificaram que o retorno da função foi mais rápido no grupo em que foi realizado neurorrafia término-terminal, comparado com os grupos em que foi realizado

neurorrafia término-lateral. Accioli de Vasconcellos⁶ realizou neurorrafia término-lateral, com axotomia do nervo doador, para restabelecer o tronco do nervo mediano interpondo um enxerto nervoso proveniente do nervo ulnar. Nesse experimento, o autor observou início da força de preensão 45 dias pós-operatório, atingindo uma força de 61,7 gr aos 60 dias.

Neurotrofinas como o fator de crescimento neuronal, os fatores de crescimento *insulin-like*, o fator de crescimento de fibroblasto, assim como fatores liberados de células de Schwann, juntos com a neurorrafia, são fatores que promovem o brotamento axonal⁸. Xiong *et al.*⁸⁰ supôs que os macrófagos, freqüentemente observados em degeneração Walleriana, podem ser as células chave para quebrar o obstáculo do perineuro após a lesão do axônio. Durante a degeneração Walleriana, a resposta macrofágica é uma das reações mais elementares. Com algumas citocinas secretadas pelos tecidos lesados, os macrófagos podem ser induzidos para os locais e serem ativados⁸⁰, seguido pela fagocitose da mielina denervada e dos componentes do axônio. Ao mesmo tempo, os macrófagos podem também secretar muitas citocinas e enzimas, que podem levar à lise de perineuro e o colapso das células de Schwann, em parte da fibra doadora. Desta forma, algumas fibras nervosas doadoras podem ser levemente lesadas e possibilitar o brotamento colateral⁸⁰. As células de Schwann também apresentam importante função na regeneração nervosa. No segmento distal, a célula de Schwann e sua lâmina basal são fatores chaves para facilitar o avanço da regeneração axonal. Além disso, a laminina e a fibronectina são moléculas importantes, existentes na lâmina basal da célula de Schwann, as quais promovem o prolongamento axonal⁴.

Ao final de nosso estudo, observamos que, quando houver perda de tecido nervoso, a técnica que apresentou melhores resultados foi a neurorrafia término-terminal, onde todos os animais recuperaram a função com resultados úteis. No caso do emprego de uma neurorrafia término-lateral com fio náilon, a recuperação funcional necessitou do dobro de tempo e ocorreu em menos da metade dos animais, não correspondendo a uma técnica adequada de reparação nervosa.

6. CONCLUSÕES

Após a análise das médias dos resultados, de acordo com essa pesquisa, podemos concluir que:

1. A neurorrafia com enxerto término-terminal foi significativamente melhor do que as neurorrafias término-laterais, mas não atingiu a normalidade.
2. Não há recuperação motora sem lesão peri-epineural do nervo doador em neurorrafia término-lateral.

7. REFERÊNCIAS

1. Ijkema-Paassen J, Jasen K, Gramsbergen A, Meek MF. Transection of peripheral nerves, bridging strategies and effect evaluation. *Biomateriais* 2004 April;25(9):1583-92.
2. Carvalho GA, Samii M. Tratamento neurológico das lesões traumáticas do plexo braquial. In: Tatagiba M, Mazzer N, Aguiar PHP, Pereira CU, eds. *Nervos periféricos. Diagnóstico e tratamento clínico e cirúrgico*. 1st ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2003. p.91-6.
3. Nehme A, Kany J, Sales-de Gauzy J, Charlet JP, Dautel G, Cahuzac JP. Obstetrical brachial plexus palsy. Prediction of outcome in upper root injuries. *J Hand Surg (British and European)* 2002;27B(1):9-12.
4. Lundborg G. 25th anniversary presentation. A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: involving neuroscientific concepts and clinical significance. *J Hand Surg* 2000;25A:391-414.
5. Lundborg G. *Nerve injury and repair*. London: Churchill & Livingstone eds; 1988.
6. Accioli de Vasconcellos ZA. Contribution à l'étude des neurotisations intra- et extra-plexuelles du plexus braquial et de ses branches terminales - étude chez le rat et chez l'homme [Tese de Doutorado]. França: Université de Paris V (Rene Descartes); 1999.
7. Ögün TC, Özdemir M, Senaran H, Üstün ME. End-to-side neurorrhaphy as a salvage procedure for irreparable nerve injuries. *J Neurosurg* 2003;99(1):180-5.
8. Hayashi A, Yanai A, Komuro Y, Nishida M, Inoue M, Seki T. Collateral sprouting occurs following end-to-side neurorrhaphy. *Plast. Reconstr. Surg* 2004;114:129.
9. Schwarts I. *Principles of surgery*. 7th ed. New York: McGraw-Hill; 1999.
10. Mira JC. Effects d'une congélation localisée sur la structure des fibres nerveuses myélinisées et leur régénération. *J. Micr. Paris* 1972;14:155-68.
11. Mira JC. Degeneration and regeneration of peripheral nerves: ultrastructural and electrophysiological observations, quantitative studies and muscular effects. *Intern.J.Microsurg.* 1981;3:102-32.
12. Ide C. Nerve regeneration and schwann cell basal lamina: observation of the long-term regeneration. *Arch.Histol.Jap* 1983;46:61-257.

13. Ide C, Tohoyama K, Yokota R, Nitatori T, Onodera S. Schwann cell basal lamina and nerve regeneration. *Brain Res.* 1983;288:61-76.
14. Krstic RV. *Atlas d'histologie générale.* Paris: Masson; 1988.
15. Revol M, Servant JM. *Paralysies de la main et du membre supérieur.* Paris: Medsci/McGraw- Hill; 1987.
16. Eccles JC, Sherrington CS. Numbers and contraction values of individual motor units examined in some muscles of the limb. *Proc. Roy. Soc. London* 1930; 106: 326.
17. Townsend PL. Microsurgical techniques in reconstructive surgery. In: Keen G, Farndon JR, eds. *Operative surgery and management.* 3rd ed. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann; 1994.
18. Suderland S. Blood supply of peripheral nerves. Practical considerations. *Arch. Neurol.Psychiatr* 1945;54:280.
19. Ely JB, Calteux N. Envelope venoso contribuição experimental à cirurgia dos nervos periféricos. *Soc. Bras. de Cirur. Plást* 1985:233-41.
20. Santos PM. A functional model system of an hypoxic nerve injury and its evaluation. *Laryngoscope* 2000;110(5 Pt 1):845-53.
21. Hromada J. On the nerve supply of the connective tissue of some peripheral nervous system components. *Acta Anat.* 1963;55:343-51.
22. Grant GA, Goodkin R, Kliot M. Evaluation and surgical management of peripheral nerve problems. *Neurosurgery* 1999;44(4):825-39; discussion 39-40.
23. Dourado E, Gomes ACA, Gomes PFS, Ribeiro TPA. Nervous regeneration technic: surgical process and alternatives. *Ver.Cirur.Traumatol. Buco-Maxilo-Facial* 2003;3(2).
24. Millesi H. Nerve grafting. *Clin Plast Surg* 1984;11(1):105-13.
25. Viterbo F. Neurorrafia término-lateral. In: Tatagiba M, Mazzer N, Aguiar PHP, Pereira CU, eds. *Nervos periféricos. Diagnóstico e tratamento clínico e cirúrgico.* 1st ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2003. p. 85-7.
26. de Medinaceli L, Freed W, Wyatt R. Peripheral nerve reconnection: improvement of long term functional effects under stimulated clinical conditions in the rat. *Exp.Neurol* 1983;81:488-96.
27. de Medinaceli L. Functional consequences of experimental nerve lesions : effects of time, location and extent of damage. *Exp.Neurol* 1988;100:154-66.

28. de Medinaceli L. Cell surgery to repair divided nerves. New-York: C.A.S.I.S and Paris: C.I.D; 1994.
29. Mira JC. Contribution à l'étude de la régénération du nerf périphérique et des changements du muscle squelettique Strié au cours de sa réinnervation [Thèse de Doctorat d'Etat]. Paris: Université Paris VI; 1980.
30. Brunelli GA, Battiston B, Vigasio A, Brunel IGR, Marcolo D. Bridging nerve defects with combined skeletal muscle and vein conduits. *Microsurgery* 1993;14:247-51.
31. Brunelli GA, Vigasio A, Brunelli GR. Different conduits in peripheral nerve surgery. *Microsurgery* 1994;15:176-8.
32. Foramitti C. Zur Technik der nervennaht. *Arch.Klinik Chirurgie* 1904;73:643-8.
33. Glück T. Ueber Neuroplastik auf dem wege der transplantation. *Arch.Klinik Chir* 1880;25:606-16.
34. Lotheissen G. Zür technik der nerven- und sehnennaht. *Arch.Klin.Chir* 1901;64:310-3.
35. Swan JJ. Discussion on injuries of the peripheral nerves. *Proc.Roy.Soc.Med* 1914;34:521-32.
36. Weiss PA. Nerve reunion with sleeves of frozen-dried artery in rabbits, cats and monkeys. *Proc.Soc.Exp.Biol* 1943;54:274-7.
37. Calteux N, Ely JB, Schoofs M, de Coninck A. Utilization d'un segment veineux dans la reparation des nerfs périferiques. *Ann. Chir. Main. Paris* 1984;3(2):149-55.
38. Ely JB, Calteux N. The use of venous envelope in nerve repair: an experimental contribution. *Plast. Reconstr. Surg* 1985;75(4):616.
39. Basset CA, Campbell JB, Husby J. Peripheral nerve and spinal cord regeneration : factors leading to success of a tabulation technique employng millipore. *Exp.Neurol* 1959;1:386-406.
40. Mackinnon SE, Dellon A. Clinical nerve regeneration with a bioabsorbable polyglycolic acid tube. *Plast.Reconstr.Surg* 1990;85:419-24.
41. Lundborg G, Gelbermann RH, Longo FM, Powel HC, Varon S. In vivo regeneration of cut nerves encased in silicone tubes : growth across a six-millimeters gap. *J.Neuropathol. Exp.Neurol* 1982; 41:412-22.
42. Madison RD, Sidman RL, Nyilas E, Chiu TH, Greatedorex D. Nontoxic nerve guide tubes support neovascular growth in transected optic nerve. *Exp.Neurol* 1984;86:448-61.

43. Henry EW, Chiu TH, Nyilas E, Brushart TM, Dikkes P, Sidman RL. Nerve regeneration through biodegradable polyester tubes. *Exp.Neurol* 1985;90:652-76.
44. Viterbo F, Palhares A, Franciosi LF. Restoration of sensitivity after removal of the sural nerve. A new application of lateral-terminal neurorrhaphy (case report). *São Paulo Med J* 1994; 112(4) 658-60.
45. Sunderland S. Nerves and injuries. Edinburgh: Churchill & Livingstone; 1978.
46. Kennedy R. On the restoration of coordinated movement after nerve-crossing, with interchange of function of the cerebral cortical centers. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. [Biol.]* 1901;194B:127.
47. Battal MN, Hata Y. A review on the history of end-to-side neurorrhaphy. *Plast Reconstr.Surgery* 1997;99(7):2110-1.
48. Ballance CA, Balance HA, Stewart P. Remarks on the operative treatment of chronic facial palsy of peripheral origin. *Br. Med.J* 1903;1:1009.
49. Viterbo F, Trindade JC, Hoshino K, Mazzoni Neto A. Latero-terminal neurorrhaphy without removal of the epineural sheath. Experimental study in rats. *Rev Paul Med* 1992;110(6):267-75.
50. Viterbo F, Trindade JC, Hoshino K, Mazzoni Neto A. End-to-side neurorrhaphy with removal of the epineurial sheath: an experimental study in rats. *Plast Reconstr Surg* 1994;94(7):1038-47.
51. Viterbo F, Trindade JC, Hoshino K, Mazzoni A. Two end-to-side neurorrhaphies and nerve graft with removal of the epineural sheath: experimental study in rats. *Br J Plast Surg* 1994;47(2):75-80.
52. Al-Qattan MM, Al-Thunyan A. Variables affecting axonal regeneration following end-to-side neurorrhaphy. *Br J Plast Surg* 1998;51(3):238-42.
53. Zhang F, Cheng C, Chin BT, et al. Results of termino-lateral neurorrhaphy to original and adjacent nerves. *Microsurgery* 1998;18:276-81.
54. Jaber FM, Abbas BP, Nezhad ST, Tanideh N. End-to-side neurorrhaphy: an experimental study in rabbits. *Microsurgery* 2003;23(4):359-62.
55. Liu K, Chen LE, Seaber AV, Goldner RV, Urbaniak JR. Motor functional and morphological findings following end-to-side neurorrhaphy in the rat model. *J Orthop Res* 1999;17(2):293-300.

56. Rovak JM, Cederna PS, Kuzon WM, Jr. Terminolateral neurorrhaphy: a review of the literature. *J Reconstr Microsurg* 2001;17(8):615-24.
57. Lundborg G, Zhao Q, Kanje M, Danielsen N, Kerns JM. Can sensory and motor collateral sprouting be induced from intact peripheral nerve by end-to-side anastomosis? *J Hand Surgery. (Br.)* 1994;19B:277-82.
58. Cajal RS. Degeneration and regeneration of the nervous system. London: Oxford University Press; 1928.
59. Kalliainen LK, Cederna PS, Kuzon WM, Jr. Mechanical function of muscle reinnervated by end-to-side neurorrhaphy. *Plast Reconstr Surg* 1999;103(7):1919-27.
60. Goheen-Robillard B, Myckatyn TM, Mackinnon SE, Hunter DA. End-to-side neurorrhaphy and lateral axonal sprouting in a long graft rat model. *Laryngoscope* 2002;112(5):899-905.
61. Viterbo F, Teixeira E, Hoshino K, Padovani CR. End-to-side neurorrhaphy with and without perineurium. *Rev Paul Med* 1998;116(5):1808-14.
62. Sachs E, Malone JY. An experimental study of methods for bridging nerve defects. *Arch.Surg* 1922;5:314.
63. Platt H, Bristow WR. The remote results of operations for injuries of peripheral nerves. *Br.J.Surg.* 1924;11:535.
64. Pollock LJ, Davis L. Peripheral nerve injuries. New York: Hoeber; 1933.
65. Gatta R. Sulla anastomosi latero-terminale dei tronchi nervosi. *Arch.ital.Chir* 1938;48:155.
66. Bertelli JA, dos Santos ARS, Calixto JB. Is axonal sprouting able to traverse the conjunctival layers of the peripheral nerve? A behavioral, motor, and sensory study of end-to-side nerve anastomosis. *J Reconstr Microsurg* 1996;12(8):559-63.
67. Noah EM, Williams A, Jorgenson C, Skoulis TG, Terzis JK. End-to-side neurorrhaphy: a histologic and morphometric study of axonal sprouting into an end-to-side nerve graft. *J Reconstr Microsurg* 1997;13(2):99-106.
68. Bertelli JA, Mira JC. The grasping test: a simple behavioral method for objective quantitative assessment of peripheral nerve regeneration in the rat. *Journal of Neuroscience Methods* 1995;58:151-5.
69. Howard CS, Blakeney DC, Medige J, Moy OJ, Peimer CA. Functional assessment in the rat by ground reaction forces. *J Biomech* 2000;33(6):751-7.

70. Giovanoli P, Koller R, Meuli-Simmen C, Rab M, Haslik W, Mittlböck M, *et al.* Functional and morphometric evaluation of end-to-side neurorrhaphy for muscle reinnervation. *Plast Reconstr Surg* 2000;106(2):383-92.
71. Dijkstra JR, Meek MF, Robinson PH, Gramsbergen A. Methods to evaluate functional nerve recovery in adult rats: walking track analysis, video analysis and the withdrawal reflex. *J. Neuroscience Methods* 2000 march 15;96(2):89-96.
72. Johansson RS. How is grasping modified by somatosensory input? In: D.R. Humphrey and H.J. Freund, eds. *Motor control: concepts and issues*. New York: Wiley; 1991.p.331-55.
73. Sundine MJ, Quan EE, Saglam O, Dhawan V, Quesada PM, Ogden L, *et al.* The use of end-to-side nerve grafts to reinnervate the paralyzed orbicularis oculi muscle. *Plast Reconstr Surg* 2003;111:2255.
74. Bertelli JA, Santos ARS, Taleb M, Calixto JB, Mira JC, Ghizoni MF. Long interpositional nerve graft consistently induces incomplete motor and sensory recovery in rat. An experimental model to test nerve repair. *Journal of Neuroscience Methods* 2004;134:75-80.
75. Koerber RH, Seymour AW, Mendell LM. Mismatches between peripheral receptor type and central projections after peripheral nerve regeneration. *Neuroscience (Letters)* 1989;99:67-72.
76. McCallister WV, Cober SR, Norman A, Trumble TE. Using intact nerve to bridge peripheral nerve defects: an alternative to the use of nerve grafts. *J.Hand Surg* 2001 March ;26(2):315-25.
77. Millesi H. Forty-two years of peripheral nerve surgery. *Microsurgery* 1993;14:228-33.
78. Sananpanich K., Morrison W. A., A. M. Physiologic and morphologic aspects of nerve regeneration after end-to-end or end-to-side coaptation in rat model of brachial plexus injury. *J Hand Surg* 2002;27A:133-42.
79. Allet MA, Leite VM, Albertoni WA, Fernandes FAS, Fernandes M, Faloppa F. Graft versus graft covered with vein conduits in nerve repairs. *Rev.Bras.Ortop* 2003;38(4):193-200.
80. Xiong G, Ling L, Nakamura R, Sugiura Y. Retrograde tracing and electrophysiological findings of collateral sprouting after end-to-side neurorrhaphy. *J.Hand Surg* 2003;8(2):145-50.

81. Narakas AO, Bonnard C. Ten years experience using tissucol in repair of the brachial plexus and neighboring nerves [periódico online] 1994 [capturado 2005 feb 4]; 13 (95-104): [8 telas]. Disponível em: <http://www.tissuesealing.com/global/surgical/neurosurgery>.

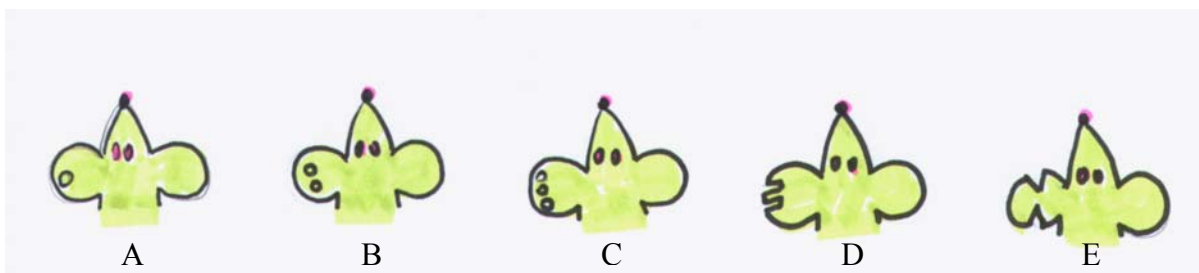
8. NORMAS ADOTADAS

1. Normatização para os Trabalhos de Conclusão do Curso de Graduação em Medicina. Resolução nº 001/2001, aprovada na Reunião do Colegiado do Curso de Graduação em Medicina em 05 de julho de 2001.
2. d' Acampora AJ, *et al.* Investigação Experimental - do Planejamento à Redação Final. 1ª ed. Florianópolis: Papa-livro; 2001.

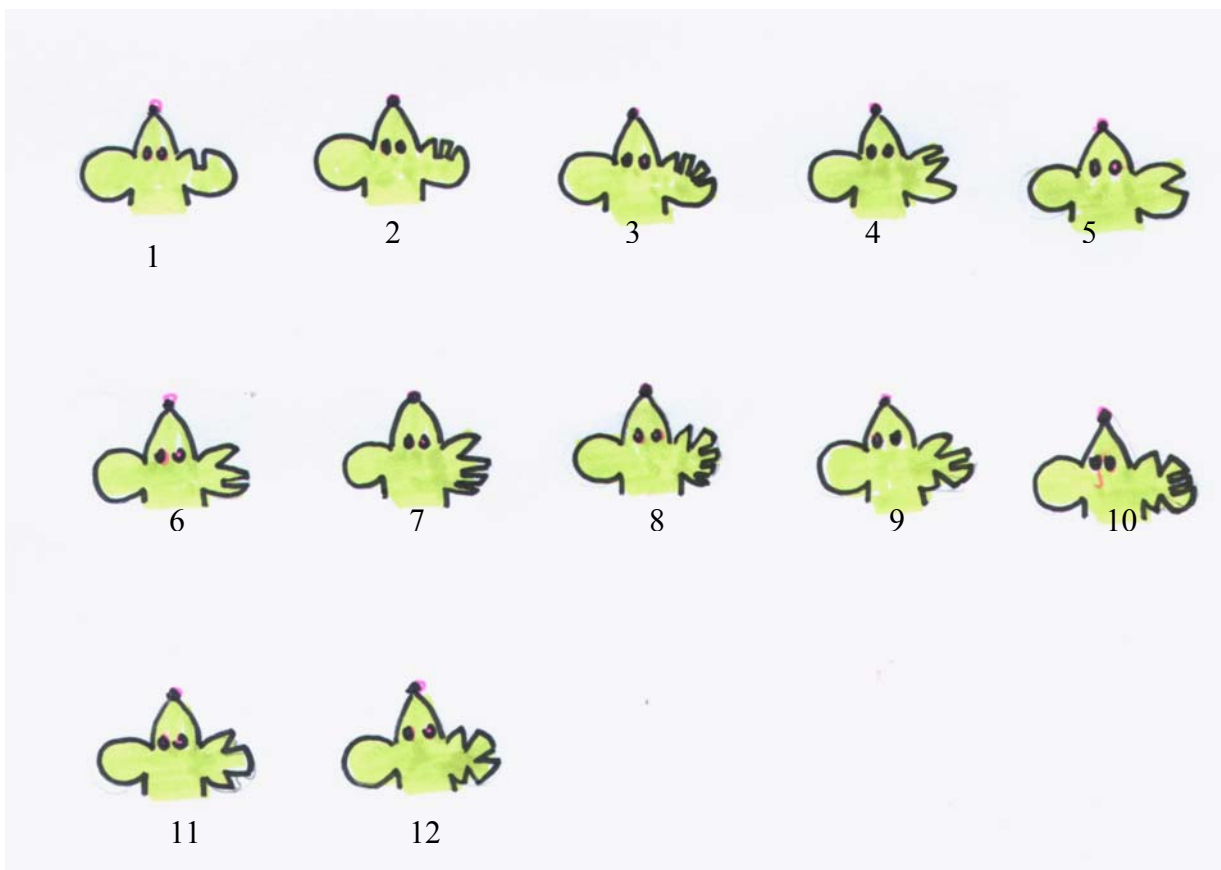
9. APÊNDICE

IDENTIFICAÇÃO DO RATO

Grupos:



Numerações dos ratos:



10. ANEXO

ESPECIFICAÇÃO DOS MATERIAIS

1. Microscópio Cirúrgico: D. F. Vasconcellos S.A., São Paulo
2. Cola de fibrina: *Tissucol[®]*, *Baxter*
3. Balança de Precisão: Precison PR 1000 Núcleo

